



EP 2 339 023 A3

(12)

EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG

(88) Veröffentlichungstag A3:
21.03.2012 Patentblatt 2012/12

(51) Int Cl.:
C12Q 1/68 (2006.01)

(43) Veröffentlichungstag A2:
29.06.2011 Patentblatt 2011/26

(21) Anmeldenummer: **10190882.0**

(22) Anmeldetag: **11.11.2010**

(84) Benannte Vertragsstaaten:
**AL AT BE BG CH CY CZ DE DK EE ES FI FR GB
GR HR HU IE IS IT LI LT LU LV MC MK MT NL NO
PL PT RO RS SE SI SK SM TR**
Benannte Erstreckungsstaaten:
BA ME

(30) Priorität: **13.11.2009 DE 102009054098**

(71) Anmelder: **Schöllhorn, Volkmar, Dr.
72479 Strassberg (DE)**

(72) Erfinder:
• **Schöllhorn, Volkmar
72479 Strassberg (DE)**
• **Haid, Volker
72336 Balingen (DE)**

(74) Vertreter: **Patentanwälte
Ruff, Wilhelm, Beier, Dauster & Partner
Postfach 10 40 36
70035 Stuttgart (DE)**

(54) Nachweis von Mykobakterien und deren Resistenzgenen

(57) Die Erfindung betrifft ein in vitro-Verfahren zum Nachweis von Tuberkulose-Erregern bzw. Mykobakterien bzw. deren DNA, umfassend die folgenden Schritte:
• Bereitstellen einer Probe, enthaltend Mykobakterien,
• Inkubieren der Probe mit einer Base,
• Isolieren von Mykobakterien-DNA aus den inkubierten Mykobakterien,
• Amplifizieren der isolierten Mykobakterien-DNA mittels Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR), wobei mehr als 30

Amplifikationszyklen durchgeführt werden,
• Nachweisen der amplifizierten Mykobakterien-DNA.
Die Erfindung betrifft weiterhin Oligonukleotid-Primer, Oligonukleotid-Sonden, einen Träger mit Oligonukleotid-Sonden sowie einen Kit zum Nachweis von DNA von Tuberkulose-Erregern bzw. Mykobakterien bzw. deren DNA.



EUROPÄISCHER RECHERCHENBERICHT

Nummer der Anmeldung
EP 10 19 0882

| EINSCHLÄGIGE DOKUMENTE | | | |
|--|---|---|---|
| Kategorie | Kennzeichnung des Dokuments mit Angabe, soweit erforderlich, der maßgeblichen Teile | Betreff Anspruch | KLASSIFIKATION DER ANMELDUNG (IPC) |
| X | BERGMANN ET AL: "Clinical evaluation of the Roche AMPLICOR PCR Mycobacterium tuberculosis test for detection of M. tuberculosis in respiratory specimens.", JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY, Bd. 34, Nr. 5, 1. Mai 1996 (1996-05-01), Seiten 1083-1085, XP055009523, ISSN: 0095-1137 | 1-5,7,11 | INV. C12Q1/68 |
| Y | * Seite 1083 - Seite 1084, Absatz 1 * ----- | 6,8-10 | |
| X | EP 1 098 003 A2 (MARINE BIOTECH INST CO LTD [JP]) 9. Mai 2001 (2001-05-09) | 12-15 | |
| Y | * Absätze [0040] - [0048]; Ansprüche * | 6,8-10 | |
| X | NIEMANN S ET AL: "Differentiation of clinical Mycobacterium tuberculosis complex isolates by gyrB DNA sequence polymorphism analysis", JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY, AMERICAN SOCIETY FOR MICROBIOLOGY, WASHINGTON, DC, US, Bd. 38, Nr. 9, 1. September 2000 (2000-09-01), Seiten 3231-3234, XP002263235, ISSN: 0095-1137 | 12-15 | |
| Y | * Zusammenfassung * | 6,8-10 | RECHERCHIERTE SACHGEBiete (IPC) C12Q |
| X | WO 03/080871 A2 (HAIN LIFESCIENCE GMBH [DE]; WEIZENEGGER MICHAEL [DE]) 2. Oktober 2003 (2003-10-02) * Seiten 20-22; Ansprüche * | 1-15 ----- -/- | |
| Der vorliegende Recherchenbericht wurde für alle Patentansprüche erstellt | | | |
| 1 | Recherchenort Den Haag | Abschlußdatum der Recherche 14. Oktober 2011 | Prüfer Reuter, Uwe |
| KATEGORIE DER GENANNTEN DOKUMENTE | | T : der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundsätze E : älteres Patentdokument, das jedoch erst am oder nach dem Anmelde datum veröffentlicht worden ist D : in der Anmeldung angeführtes Dokument L : aus anderen Gründen angeführtes Dokument & : Mitglied der gleichen Patentfamilie, übereinstimmendes Dokument | |
| X : von besonderer Bedeutung allein betrachtet Y : von besonderer Bedeutung in Verbindung mit einer anderen Veröffentlichung derselben Kategorie A : technologischer Hintergrund O : nichtschriftliche Offenbarung P : Zwischenliteratur | | | |



EUROPÄISCHER RECHERCHENBERICHT

Nummer der Anmeldung
EP 10 19 0882

| EINSCHLÄGIGE DOKUMENTE | | | |
|--|--|--|------------------------------------|
| Kategorie | Kennzeichnung des Dokuments mit Angabe, soweit erforderlich, der maßgeblichen Teile | Betrifft Anspruch | KLASSIFIKATION DER ANMELDUNG (IPC) |
| A | DARÍO GARCÍA DE VIEDMA ET AL: "New real-time PCR able to detect in a single tube multiple rifampin resistance mutations and high-level isoniazid resistance mutations in Mycobacterium tuberculosis", JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY, AMERICAN SOCIETY FOR MICROBIOLOGY, WASHINGTON, DC, US, Bd. 40, Nr. 3, 1. März 2002 (2002-03-01), Seiten 988-995, XP002621308, ISSN: 0095-1137, DOI: 10.1128/JCM.40.3.988-995.2002 * Seiten 989-991; Tabelle 1 * ----- | 1-15 | |
| A | N. SIDDIQI ET AL: "Molecular Characterization of Multidrug-Resistant Isolates of Mycobacterium tuberculosis from Patients in North India", ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY, Bd. 46, Nr. 2, 1. Februar 2002 (2002-02-01), Seiten 443-450, XP055009310, ISSN: 0066-4804, DOI: 10.1128/AAC.46.2.443-450.2002 * Abbildungen; Tabelle 1 * ----- | 1-15 | RECHERCHIERTE SACHGEBIETE (IPC) |
| A | WO 2007/115344 A1 (ARC AUSTRIAN RES CTENTERS GMBH [AT]; SESSITSCH ANGELA [AT]; BODROSSY L) 18. Oktober 2007 (2007-10-18) * Ansprüche * ----- | 1-15 | |
| Der vorliegende Recherchenbericht wurde für alle Patentansprüche erstellt | | | |
| 1 | Recherchenort Den Haag | Abschlußdatum der Recherche 14. Oktober 2011 | Prüfer Reuter, Uwe |
| KATEGORIE DER GENANNTEN DOKUMENTE | | T : der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundsätze E : älteres Patentdokument, das jedoch erst am oder nach dem Anmeldedatum veröffentlicht worden ist D : in der Anmeldung angeführtes Dokument L : aus anderen Gründen angeführtes Dokument & : Mitglied der gleichen Patentfamilie, übereinstimmendes Dokument | |
| X : von besonderer Bedeutung allein betrachtet Y : von besonderer Bedeutung in Verbindung mit einer anderen Veröffentlichung derselben Kategorie A : technologischer Hintergrund O : nichtschriftliche Offenbarung P : Zwischenliteratur | | | |



Nummer der Anmeldung

EP 10 19 0882

GEBÜHRENFLECHTIGE PATENTANSPRÜCHE

Die vorliegende europäische Patentanmeldung enthielt bei ihrer Einreichung Patentansprüche, für die eine Zahlung fällig war.

- Nur ein Teil der Anspruchsgebühren wurde innerhalb der vorgeschriebenen Frist entrichtet. Der vorliegende europäische Recherchenbericht wurde für jene Patentansprüche erstellt, für die keine Zahlung fällig war, sowie für die Patentansprüche, für die Anspruchsgebühren entrichtet wurden, nämlich Patentansprüche:

- Keine der Anspruchsgebühren wurde innerhalb der vorgeschriebenen Frist entrichtet. Der vorliegende europäische Recherchenbericht wurde für die Patentansprüche erstellt, für die keine Zahlung fällig war.

MANGELNDE EINHEITLICHKEIT DER ERFINDUNG

Nach Auffassung der Recherchenabteilung entspricht die vorliegende europäische Patentanmeldung nicht den Anforderungen an die Einheitlichkeit der Erfindung und enthält mehrere Erfindungen oder Gruppen von Erfindungen, nämlich:

Siehe Ergänzungsblatt B

- Alle weiteren Recherchengebühren wurden innerhalb der gesetzten Frist entrichtet. Der vorliegende europäische Recherchenbericht wurde für alle Patentansprüche erstellt.
- Da für alle recherchierbaren Ansprüche die Recherche ohne einen Arbeitsaufwand durchgeführt werden konnte, der eine zusätzliche Recherchengebühr gerechtfertigt hätte, hat die Recherchenabteilung nicht zur Zahlung einer solchen Gebühr aufgefordert.
- Nur ein Teil der weiteren Recherchengebühren wurde innerhalb der gesetzten Frist entrichtet. Der vorliegende europäische Recherchenbericht wurde für die Teile der Anmeldung erstellt, die sich auf Erfindungen beziehen, für die Recherchengebühren entrichtet worden sind, nämlich Patentansprüche:

- Keine der weiteren Recherchengebühren wurde innerhalb der gesetzten Frist entrichtet. Der vorliegende europäische Recherchenbericht wurde für die Teile der Anmeldung erstellt, die sich auf die zuerst in den Patentansprüchen erwähnte Erfindung beziehen, nämlich Patentansprüche:

1-15 (teilweise)

- Der vorliegende ergänzende europäische Recherchenbericht wurde für die Teile der Anmeldung erstellt, die sich auf die zuerst in den Patentansprüchen erwähnte Erfindung beziehen (Regel 164 (1) EPÜ).



**MANGELNDE EINHEITLICHKEIT
DER ERFINDUNG
ERGÄNZUNGSBLATT B**

Nummer der Anmeldung
EP 10 19 0882

Nach Auffassung der Recherchenabteilung entspricht die vorliegende europäische Patentanmeldung nicht den Anforderungen an die Einheitlichkeit der Erfindung und enthält mehrere Erfindungen oder Gruppen von Erfindungen, nämlich:

1. Ansprüche: 1-15 (teilweise)

Oligonukleotidprimer zum Amplifizieren, Sonden zum Nachweis von Mykobakterien DNA welche spezifisch für das gyrB Gen sind (SEQ ID No 1,2,11-13), Träger umfassend besagte Sonden, Kit umfassend besagte Oligonukleotide und Verfahren zum Nachweise von DNA welches diese Primer und/ oder Sonden verwendet.

2. Ansprüche: 1-15 (teilweise)

Oligonukleotidprimer zum Amplifizieren, Sonden zum Nachweis von Mykobakterien DNA welche spezifisch für das katG Gen sind (SEQ ID No 3,4,17-19,77-82), Träger umfassend besagte Sonden, Kit umfassend besagte Oligonukleotide und Verfahren zum Nachweise von DNA welches diese Primer und/ oder Sonden verwendet.

3. Ansprüche: 1-15 (teilweise)

Oligonukleotidprimer zum Amplifizieren, Sonden zum Nachweis von Mykobakterien DNA welche spezifisch für das inhA Gen sind (SEQ ID No 5,6,14-16,83-94), Träger umfassend besagte Sonden, Kit umfassend besagte Oligonukleotide und Verfahren zum Nachweise von DNA welches diese Primer und/ oder Sonden verwendet.

4. Ansprüche: 1-15 (teilweise)

Oligonukleotidprimer zum Amplifizieren, Sonden zum Nachweis von Mykobakterien DNA welche spezifisch für das rpoB Gen sind (SEQ ID No 7,8,20-28,56-76), Träger umfassend besagte Sonden, Kit umfassend besagte Oligonukleotide und Verfahren zum Nachweise von DNA welches diese Primer und/ oder Sonden verwendet.

5. Ansprüche: 1-12, 15 (alle teilweise)

Oligonukleotidprimer zum Amplifizieren des humanen GAPDH Gens (SEQ ID No 9-10), Kit umfassend besagte Oligonukleotide und Verfahren zum Nachweise von DNA welches diese Primer verwendet.

6. Ansprüche: 1-11, 13-15 (alle teilweise)

Sonden zum Nachweis von Mykobakterien DNA welche spezifisch



**MANGELNDE EINHEITLICHKEIT
DER ERFINDUNG
ERGÄNZUNGSBLATT B**

Nummer der Anmeldung

EP 10 19 0882

Nach Auffassung der Recherchenabteilung entspricht die vorliegende europäische Patentanmeldung nicht den Anforderungen an die Einheitlichkeit der Erfindung und enthält mehrere Erfindungen oder Gruppen von Erfindungen, nämlich:

für die rrs Zielregion sind (SEQ ID No 29-31), Träger umfassend besagte Sonden, Kit umfassend besagte Sonden und Verfahren zum Nachweise von DNA welches diese Sonden verwendet.

7. Ansprüche: 1-11, 13-15(alle teilweise)

Sonden zum Nachweis von Mykobakterien DNA welche spezifisch für das rpsL Gen sind (SEQ ID No 32-40), Träger umfassend besagte Sonden, Kit umfassend besagte Sonden und Verfahren zum Nachweise von DNA welches diese Sonden verwendet.

8. Ansprüche: 1-11, 13-15(alle teilweise)

Sonden zum Nachweis von Mykobakterien DNA welche spezifisch für die Kan Zielregion sind (SEQ ID No 41-49), Träger umfassend besagte Sonden, Kit umfassend besagte Sonden und Verfahren zum Nachweise von DNA welches diese Sonden verwendet.

9. Ansprüche: 1-11, 13-15(alle teilweise)

Sonden zum Nachweis von Mykobakterien DNA welche spezifisch für das gyrA Gen sind (SEQ ID No 50-55), Träger umfassend besagte Sonden, Kit umfassend besagte Sonden und Verfahren zum Nachweise von DNA welches diese Sonden verwendet.

**ANHANG ZUM EUROPÄISCHEN RECHERCHENBERICHT
ÜBER DIE EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG NR.**

EP 10 19 0882

In diesem Anhang sind die Mitglieder der Patentfamilien der im obengenannten europäischen Recherchenbericht angeführten Patentdokumente angegeben.

Die Angaben über die Familienmitglieder entsprechen dem Stand der Datei des Europäischen Patentamts am
Diese Angaben dienen nur zur Unterrichtung und erfolgen ohne Gewähr.

14-10-2011

| Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument | | Datum der Veröffentlichung | Mitglied(er) der Patentfamilie | Datum der Veröffentlichung |
|--|----|-------------------------------|---|--|
| EP 1098003 | A2 | 09-05-2001 | EP 1098003 A2 JP 3565752 B2 JP 2001128679 A | 09-05-2001 15-09-2004 15-05-2001 |
| WO 03080871 | A2 | 02-10-2003 | AU 2003256082 A1 DE 10213537 A1 EP 1490518 A2 WO 03080871 A2 | 08-10-2003 30-10-2003 29-12-2004 02-10-2003 |
| WO 2007115344 | A1 | 18-10-2007 | AT 503401 A1 EP 2004851 A1 WO 2007115344 A1 | 15-10-2007 24-12-2008 18-10-2007 |